

時間依存的阻害を考慮した薬物トランスポーター OATPの関与する薬物相互作用予測

著者	田口 貴之
著者別表示	TAGUCHI Takayuki
雑誌名	博士論文要旨Abstractおよび要約Outline
学位授与番号	13301甲第5081号
学位名	博士（創薬科学）
学位授与年月日	2020-03-22
URL	http://hdl.handle.net/2297/00060026

doi: <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.04.025>



学位論文要旨

学位論文要約

Organic anion transporting polypeptide (OATP) plays a key role for the drug disposition and risk assessment of OATP-mediated DDIs is an integral part of drug development. However, the difficult aspects for the prediction of DDIs is remained for its complex mechanism of OATP inhibition. Then, we focused on time dependent OATP1B1 inhibition among various features of OATP1B1 inhibition and try to establish the new approach for the prediction of OATP1B1-mediated DDIs. In the present study, three R value (R_1 , R_2 and R_3), the predicted ratio of the victim drug's AUC, was calculated and compared with observed AUC ratio (4.6–15) in clinical. R_1 values (1.80–2.07), recommended in DDI guideline/draft guidance, were much lower than observed AUC ratio. On the other hand, R_2 values (22.1–88.9) estimated based on inactivation and recovery parameters of OATP1B1 were higher than observed AUC ratio, and R_3 (1.74–5.49) values considered both R_1 and R_2 values, and contribution ratio of OATP1B1 to overall hepatic uptake was close to observed AUC ratio. These results suggest that R_2 value can help to avoid the false negative prediction and R_3 value is an alternative index for quantitative prediction of OATP1B1-mediated DDIs mediated by time dependent inhibitor drugs.

学位論文要旨

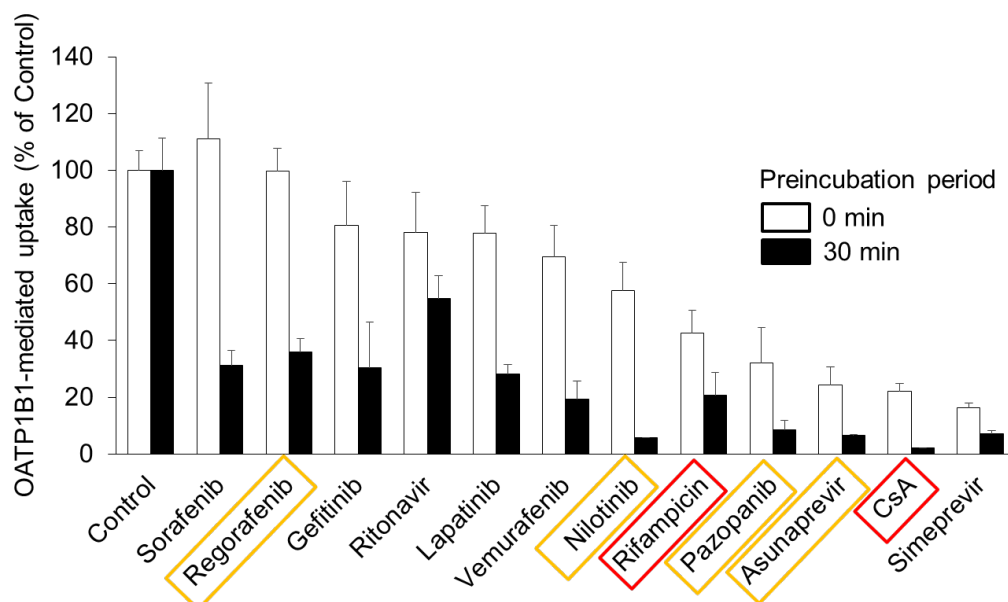
薬物相互作用 (DDI) は発現機序により薬物動態学的相互作用と薬力学的相互作用に大別され、重篤な副作用や治療効果の減弱などの原因となることから、医薬品開発においてヒトにおける薬物相互作用の有無とその程度を予測することは重要である。この中で、薬物動態学的相互作用は薬物の吸収・分布・代謝及び排泄過程において起こる薬物相互作用であり、臨床ではこれらの過程に影響を及ぼす薬物代謝酵素及びトランスポーターに関する DDI が多数報告されている。有機アニオントランスポーター OATP1B1 及び OATP1B3 は主に肝細胞の類洞膜側に発現しており、生体内物質や医薬品など、様々な物質の肝臓内への移行に関与している。特にスタチンなどの一部の薬物は、OATP を介した肝取り込み過程が体内からの消失における律速過程となっており、臨床において OATP 阻害薬との併用や OATP の遺伝子多型により、これら薬物の血漿中濃度が著しく上昇することが報告されている。従って、医薬品開発における新規分子化合物 (NME) の OATP 阻害による薬物相互作用の予測は重要であり、各局の DDI ガイドラインでは OATP 阻害に基づく臨床 DDI 試験の実施を判断するための DDI 予測式 [$R = 1 + I_{u,inlet,max}/K_i$ ($I_{u,inlet,max}$: 肝臓入り口の血液中での推定最大非結合形阻害剤濃度、 K_i : 阻害定数)] が示されているが、この DDI 予測式を用いても一部の例で

DDI 予測が偽陰性になると報告されている。この原因は明らかとなっていないが、予測式に含まれる $I_{u,inlet,max}$ は未変化体の非結合形薬物濃度であり、血漿蛋白結合形薬物や代謝物による OATP 阻害の関与を反映していないこと、また $I_{u,inlet,max}$ は理論的な最大値を用いることが推奨されている一方で、 K_i 値は *in vitro* 試験で算出された阻害定数を用いることから、 K_i 値の過大評価も原因の一つであることが考えられた。そこで、はじめに DDI ガイドラインで臨床 DDI 試験の実施において OATP 阻害薬として使用することが推奨されている ciclosporine A (CsA) 及び rifampicin を用いて、ガイドラインに示されている DDI 予測式の予測精度について検証した。

ラットに CsA 静脈内投与後 1 日において、OATP 基質である pravastatin を経口投与したときの pravastatin の血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は媒体投与群と比較して有意に上昇した。このとき、DDI 予測式から予測した AUC の上昇は DDI 試験における AUC の上昇に比べて著しく低かった。一方で、rifampicin 投与群における pravastatin の AUC は媒体投与群と同程度であり、DDI 予測式から予測した AUC の上昇とほぼ一致した。従って、rifampicin は DDI 予測式から DDI を定量的に予測可能であった一方で、CsA は DDI を過小評価することが明らかとなった。そこで、CsA による DDI の過小評価の原因として血漿蛋白に結合形した CsA による Oatp 阻害を考慮していないことを考え、ラット肝細胞を用いてバッファー及びラット血清条件下で CsA による取り込み阻害試験を実施した。バッファー条件下において算出した Oatp に対する CsA の阻害定数 (IC_{50} 値) は、ラット血清存在下において非結合形薬物濃度基準で算出した IC_{50} 値と近い値であった。従って、Oatp 阻害には非結合形の CsA のみが関与していると示唆された。次に、DDI 試験では CsA の代謝物が血漿中に存在することに着目し、CsA の代謝物による Oatp 阻害の可能性を検証した。CsA の主代謝物の一つである M1 は *in vitro* 試験において濃度依存的に Oatp 基質の輸送を阻害したが、DDI 試験における M1 の血漿中濃度では Oatp をほとんど阻害しないと推察された。さらに、CsA の代謝物による Oatp 阻害の可能性を網羅的に評価する目的で、非選択的 P450 阻害剤である 1-aminobenzotriazole (ABT) を投与した条件において DDI 試験を実施したが、R 値は AUC の上昇に比べて低く、DDI を過小評価した。そこで、*in vitro* 試験から算出した IC_{50} 値を過大評価している可能性を考え、DDI 試験における pravastatin の経口クリアランスとそのときの血漿中非結合形 CsA 濃度から *in vivo* における CsA の阻害定数 (K_i 値) を算出した。その結果、*in vivo* の K_i 値は *in vitro* 試験で算出した IC_{50} 値の 1/1000 であった。さらに、*in vivo* の K_i 値を用いて予測したその他の DDI 試験における pravastatin の経口クリアランスは、実験値とほぼ一致した。従って、CsA による DDI 予測の過小評価は、*in vitro* 試験で算出された IC_{50} 値の過大評価が原因であったが、DDI 試験で算出した K_i 値を用いることでその他の試験条件における DDI を精度高く予測できると考えられた。

In vitro 試験で算出された IC_{50} 値と DDI 試験より算出した K_i 値の解離の原因は明らかとならなかったが、これまでに CsA 及びいくつかの OATP 阻害薬は阻害試験をする前に細胞とプレインキュベーションすることで、OATP1B1 に対する阻害作用を増強させること (時間依存的阻害) が報告され、DDI ガイドラインにおいても 30 分以上のプレインキュベーション条件下において、 IC_{50} 値を算出することが推奨されている。そこで、CsA、rifampicin 及び

これまでに時間依存的 OATP1B1 阻害作用が報告されていない又は報告されている薬物について、プレインキュベーション 30 分の条件で時間依存的阻害を評価した。その結果、本検討で評価したいずれの薬物もプレインキュベーション 0 分に比べて 30 分で OATP1B1 阻害作用が増強した。



次に、DDI ガイドラインで推奨されている 30 分以上のプレインキュベーション時間の妥当性を評価する目的で、CsA、rifampicin 及び 30 分のプレインキュベーションで強い阻害作用を示した pazopanib、asunaprevir、nilotinib、regorafenib について、1、5、30 及び 60 分のプレインキュベーションで OATP1B1 阻害作用を評価した。CsA 及び pazopanib は 1 分のプレインキュベーションにおいて阻害作用が増強し、1-60 分の間で同等の IC_{50} 値であった。また、asunaprevir は 30 分のプレインキュベーションにおいて阻害作用が増強し、30 分と 60 分で同等の IC_{50} 値であった。一方で、nilotinib 及び regorafenib は 30 分のプレインキュベーションにおいて阻害作用が増強したが、60 分のプレインキュベーションで最も低い IC_{50} 値を示した。従って、OATP1B1 阻害作用が最大となるプレインキュベーション時間は薬物により異なり、nilotinib や regorafenib のように OATP1B1 阻害作用が 30 分に比べて 60 分のプレインキュベーションで最も強くなる薬物も存在することから、DDI ガイドラインで推奨されているプレインキュベーション 30 分以上は、必ずしも適切なプレインキュベーション時間でないと考えられた。

このように薬物ごとに最も低い IC_{50} 値を示すプレインキュベーション時間が異なることから、DDI の偽陰性を避けるために最も低い IC_{50} 値を算出するうえで、最適なプレインキュベーション時間を設定することは非常に困難である。また、DDI ガイドラインでは OATP 阻害による DDI を時間依存的阻害と可逆的阻害を区別せずに 1 つの予測式を用いて予測することを推奨しているが、薬物代謝酵素阻害による DDI では時間依存的阻害と可逆的阻害で異なる予測式が示されている。そのため、一部の例で OATP1B1 阻害による DDI を偽陰性とする原因として、OATP1B1 阻害による DDI では時間依存的阻害と可逆的阻害を同一の予測式で予測することが考えられた。そこで、時間依存的 OATP1B1 阻害による DDI に着目し、

DDI ガイドラインで記載されている従来の予測式より予測精度の高い新規 DDI 予測式の構築を目指した。本検討では、DDI ガイドラインの予測式を R_1 値とし、OATP1B1 の不活化及び回復過程を組み込んだ予測式を R_2 値とし、さらに R_1 値と R_2 値に加えて肝取り込み固有クリアランスに対する OATP1B1 の寄与率を組み込んだ予測式を R_3 値とした。各 R 値の予測精度は、時間依存的阻害薬であり臨床 DDI 試験結果の豊富な CsA を併用したときの OATP1B1 基質 (atorvastatin、pitavastatin 及び rosuvastatin) の AUC の上昇率 (AUC 比) と比較し、検証した。OATP1B1 阻害には基質依存性が報告されていることから、CsA による OATP1B1 の時間依存的阻害、不活化及び回復試験では、それぞれの OATP1B1 基質について評価した。CsA の血漿蛋白非結合率 ($f_{u,p}$) は平衡透析法により評価した。 R 値の算出に必要なその他の薬剤パラメータ (吸収速度定数、消化管アベイラビリティ及び血液/血漿濃度比)、生理学的パラメータ (肝血流速度) 及び臨床試験情報 (最高血漿中濃度及び投与量) は、Common Technical Document、FDA approval package 及び論文から引用した。

Substrates	R_1	R_2	R_3	Observed
				AUC ratio
Atorvastatin	1.80	22.1	4.28	9.0, 15
Pitavastatin	2.07	88.9	1.74	4.6
Rosuvastatin	1.82	327	5.49	7.1

R_1 値はいずれの OATP1B1 基質についても臨床の AUC 比と比較して著しく低かった。従って、現在の DDI ガイドラインで推奨されている R (R_1) 値は、OATP1B1 に対して時間依存的阻害作用を有する薬物の DDI を過小評価することが示唆された。一方で、 R_2 値はいずれの基質についても臨床の AUC 比と比較して高かった。従って、 R_2 値は時間依存的 OATP1B1 阻害による DDI の偽陰性を避けるうえで有用な指標となりえると推察された。さらに、 R_3 値はいずれの基質についても臨床の AUC 比と比較して低かったが、 R_1 値や R_2 値よりも臨床の AUC 比との乖離が小さく、さらに CsA とそれぞれの OATP1B1 基質の AUC の上昇は OATP1B1 に加えて薬物代謝酵素の阻害も影響している可能性があることから、 R_3 値は時間依存的 OATP1B1 阻害による DDI を定量的に予測するうえで有用な指標であると考えられた。

最後に、本研究により時間依存的 OATP1B1 阻害作用を有することが明らかとなった asunaprevir、regorafenib、nilotinib 及び pazopanib に関して R_1 、 R_2 及び R_3 値を算出し、 R 値として 1.25 を基準として、これら薬物の OATP1B1 阻害による DDI の起こる可能性を評価した。

Inhibitors	R_1	R_2	R_3	Observed
				AUC ratio
Asunaprevir	1.03	1.02	1.03	NA
Nilotinib	1.34	1.25	1.26	NA
Regorafenib	1.19	1.21	1.22	NA
Pazopanib	1.09	2.01	2.05	1.26, 1.89

Asunaprevir 及び regorafenib の R_1 、 R_2 及び R_3 値は 1.25 よりも低く、それぞれの R 値は同等であった。従って、asunaprevir 及び regorafenib は臨床において OATP1B1 阻害による DDI を起こす可能性は低いと示唆された。一方で、nilotinib の R_1 、 R_2 及び R_3 値は 1.25 以上であり、pazopanib の R_1 値は 1.25 未満であったが R_2 及び R_3 値は 1.25 よりも高かった。従って、nilotinib 及び pazopanib は臨床において OATP1B1 阻害による DDI を起こす可能性が示唆された。これまでに nilotinib 及び pazopanib の OATP1B1 阻害に関連する臨床 DDI 試験の報告は限られており、さらにその DDI の報告は OATP1B1 ではなく薬物代謝酵素の阻害が原因であると考えられることから、nilotinib 及び pazopanib の OATP1B1 阻害による DDI の可能性については今後の評価が期待される。

以上より、本研究は時間依存的 OATP 阻害に着目し、現在の DDI ガイドラインで示されている予測法と比較して偽陰性を避けられ、また定量的な新規 DDI 予測法を構築した。本知見は、医薬品開発において OATP1B1 阻害による予期せぬ DDI リスクの回避につながるだけでなく、OATP1B1 以外のトランスポーターに対する精度の高い DDI 予測法の構築にも期待できる。

審査結果の要旨

薬物のヒト肝細胞への取り込みに働く膜輸送体 OATP1B1 は、多くの薬物を基質として認識する一方、臨床において OATP1B1 を阻害する薬物も知られることから、医薬品開発段階での、OATP1B1 を介した薬物相互作用の定量的評価が重要視されている。しかし、臨床での相互作用が予測以上に顕著に見られることが問題となっており、時間依存的な OATP 阻害がその要因の一つと考えられているものの、実証はされておらず、どのような予測法が妥当かについての科学的検証も不十分である。本研究は、Oatp の時間依存的阻害によって薬物相互作用が起こることを、阻害剤 cyclosporin A (CsA) を用い、げっ歯類 *in vivo* で実証した。また、CsA による薬物相互作用を Oatp に対する競合阻害を仮定して予測すると実測値との間に 1,000 倍を超える乖離があることを示し、これまで予測に汎用されてきた静的モデルでは定量的に不十分であることを示した。そこで、CsA による OATP 阻害とその回復が時間依存的であることに着目し、CsA と OATP 基質薬との相互作用について、mechanism-based な阻害を仮定した静的モデルを用い、そのパラメータを遺伝子発現系で実測したのち、臨床における血中濃度の変化を予測したところ、予測と実測との乖離は減少した。本研究は、OATP を介した薬物相互作用の予測に新たな手法を提唱する点で創薬科学的意義が認められることから、博士(創薬科学)論文に値すると判定された。